

تأثير الثوم في الوقاية من اثر الإشعاع وتحفيز أنزيم Glutathione Reductase

تاريخ قبوله للنشر ٢٢/١/٢٠٠٣

تاريخ تسلم البحث ٧/٨/٢٠٠٢

سعد جابر تاج الدين*، اسماعيل كاظم شبر**، عباس حسين الربيعي***

Abstract

The Study is designed to investigate the effect of garlic (*Allium sativum*) in the inhibition of genotoxic effects of ionizing radiation in mice (Balb/c strain). The genotoxic effects of Gamma-radiation (100 rad) on somatic cells (bone marrow), and germ cells were cytogenetically analyzed by determining the Mitotic Index (MI). The specific activity of Glutathione Reductase enzyme was determined in liver cells homogenate of irradiated mice. The data revealed that garlic alcoholic extract and the garlic oil (Allin) were able to protect the cells against genotoxic effects of Gamma irradiation. Treatment of mice with alcoholic extract of garlic before irradiation results in an increase in the activity of (GR) enzyme (8.14 U) being compared with the control (1.56 U) and the irradiated mice (3.6 U). The results suggest that garlic is classified as a desmutagen and then as a Bioantimutagen.

ملخص

تضمنت الدراسة بحث دور الثوم Garlic (*Allium sativum*) في الوقاية من التأثيرات السمية للأشعة المؤينة في الفار الأبيض (Balb/c). تم تحليل التأثيرات السمية لأشعة جاما من خلال تقدير مؤشر الانقسام (MI) لخلايا نقي العظم (bone marrow) والخلايا الجنسية (germ cells). وكذلك تقدير الفعالية النوعية لانزيم Glutathione Reductase (GR) في خلايا كبد الفار. واتضح من الدراسة ان مستخلصات الثوم الكحولية وزيت الثوم (الالين) دوراً في تثبيط التأثيرات السمية الوراثية لأشعة جاما. وعند المعاملة بالمستخلص الكحولي قبل التعرض لأشعة جاما ارتفعت الفعالية النوعية للأنزيم (GR) إلى ٨,١٤ وهي زيادة معنوية مقارنة بالفعالية الأنزيمية (١,٥٦) للسيطرة السالبة (بدون معاملة) او مقارنة بفعالية (٣,٦) عند التعرض لأشعة جاما فقط. مما يشير الى ان الثوم من المواد المضادة للتطفير خارج الخلية (Desmutagen) بالمرتبة الأولى ثم من المواد المضادة للتطفير داخل الخلية (Bioantimutagen) بالمرتبة الثانية.

* المختبرات الطبية والباثولوجية، مؤسسة حمد الطبية، الدوحة- قطر.

** منظمة الطاقة الذرية، بغداد، العراق.

*** قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بابل الحلة ص.ب ٤، العراق

المقدمة:

ان التعرض للاشعاع يؤدي إلى حدوث مخاطر وراثية بسبب التغيير في التركيب الكيميائي للمادة الوراثية الذي يؤدي إلى حدوث الطفرة الوراثية واذا كانت في الخلايا الجنسية فهذا يعني انتقالها إلى الابناء وبالتالي استمرار الطفرة في المجموعة السكانية. وينتج عن التعرض للاشعاع التأثير على الـ (DNA) واحداث كسور وتشوهات كروموسومية (Bender *et al.*, 1988). كما ان التغيرات التي تحدث في الخلايا الجسمية تشكل خطراً على الفرد الحامل لها (Augentein *et al.*, 1969). ويعتبر مؤشر الانقسام (MI) من أهم المقاييس التي تستخدم للكشف عن التأثير السمي الوراثي للمواد المختلفة الفيزيائية والكيميائية لظهور قابليتها على احداث التطفير او التسرطن. حيث لوحظ ان اكثر المواد المطفرة والمسرطنة تؤثر في عدد الانقسامات ومراحل الانقسام (Stich & San, 1981). وقد أشارت الدراسات التي اجريت على الخلايا البشرية إلى حدوث تثبيط في الانقسام الخيطي للخلايا الدموية البيضاء اللمفية بعد تعرضها للاشعاع (Matsubara *et al.*, 1986). ان الغالبية العظمى لامراض السرطان تعزى الى عوامل البيئة وتعتبر عوامل التغذية من اهم العوامل للسيطرة على المرض لذا فان الحماية الغذائية تعد الطريقة الاكثر تأثيراً في تقليل اضرار السرطان حيث ان عوامل الغذاء المرتبطة بانخفاض اضرار السرطان تم تشخيصها ومن أمثلة هذه الاغذية نباتات العائلة الصليبية (Lau *et al.*, 1990). ويعد الثوم اهم المواد الغذائية التابعة للعائلة الصليبية حيث يحتوي على عدد كبير من مركبات الكبريت العضوي التي اكسبته الخصائص الطبية والتي من أكثرها مادة الالين Allin (Block, 1983). الذي يفيد للوقاية من السرطان كونه يزيد من نشاط الجهاز المناعي. وان الثوم يزيد من فعالية الانزيم Glutathione-s-transferase (GST) الذي له دور في أيض الكلوتاثيون (Singh *et al.*, 1995). اجريت هذه الدراسة باعتماد نظام داخل جسم اللبائن لبيان دور الثوم في تثبيط تأثير الاشعاع عن طريق زيادة فعالية انزيم G Glutathione Reductase (GR) الذي يدخل ضمن عمليات الحماية ضد اثر المطفرات والمسرطنات.

المواد والطرائق

الحيوانات المختبرية: استخدمت الفئران السويسرية البيضاء (Mus musculus) الضرب (alb/c) بعمر (٨-١٢) اسبوع ووزن (٢٧-٢٣غم) واستخدمت بواقع ثلاث فئران لكل معاملة من المعاملات في التجارب المختبرية.

تحضير مستخلصات الثوم: لقد تم تحضير مستخلصات الثوم (المائية الباردة والمغلقة) حسب طريقة (Sato et al., 1990) واعتمدت طريقة (١٩٧٥) Harborne et. al., لتحضير المستخلص الكحولي للثوم. واستعملت كبسولات تحتوي على زيت الثوم تسمى Ranbaxys Garlic Rears هندية الصنع حيث تحتوي كل كبسولة على ٠,٦٥ ملغم من زيت الثوم خلط مع العليقة الغذائية للفار بحيث يحوي كل ١,٥ غم في العليقة الجرعة المطلوبة (٠,٢ ملغم/كغم). كما تم تحضير التركيز ١٠٠ ملغم/كغم من المستخلصات المائية والكحولية للثوم.

التشعيع: شععت الحيوانات بأشعة كاما Gamma المنبعثة من مصدر سيزيوم ١٣٧ (Cs) في مختبرات منظمة الطاقة الذرية العراقية، مركز البحوث الزراعية باستخدام جهاز خلية كاما Gamma cell 40 (limited Industrial products, Atomic Energy, Canada) وبمعدل جرعة Dose rate ٩٨,٣ راد/دقيقة وكان التشعيع لعموم جسم الحيوان.

التحضيرات الخلوية: تم تحضير كروموسومات خلايا نقي العظم حسب طريقة (١٩٧٧) Allen et al. واستخدمت طريقة (١٩٦٤) Evans et al للحصول على كروموسومات الخلايا الجنسية للذكور. ولحساب مؤشر الانقسام (MI) للخلايا الجنسية وخلايا نقي العظم استخدمت معادلة (١٩٨١) Stich & San.

$$MI = \frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{\text{عدد الخلايا الكلي}} \times 100$$

استخلاص الانزيم Glutathione Reductase (GR):

تم وزن (١) غم من كبسول الفار وخلط بوجود (١) مللتر من

تأثير الثوم في الوقاية من اثر سعد جابر تاج الدين ، اسماعيل شبر ، عباس الربيعي

physiologically saline باستعمال خلاط زجاجي يدوي (glass cell homogenizer) ثم نقل الى جهاز الطرد المركزي بسرعة ٥٠٠٠ دورة/دقيقة لمدة (١) ساعة، ثم يؤخذ السائل العلوي (Supernatant) مع تجنب الطبقة الدهنية الموجودة فوق السائل. تم الاحتفاظ بالانزيم الخام (Crude extract) في المجمدة (-٢٠) م أو أستخدم مباشرة لتقدير فعالية الانزيم.

تقدير الفعالية الانزيمية :-

تم تقدير الفعالية الانزيمية باستخدام طريقة (Racker ١٩٥٥) في حجم كلي مقداره (١) ملتر ويحتوي خليط التفاعل على (١، ٠) ملتر من الالبومين (١٪) و (٤، ٠) ملتر من الكلوتاثيون المؤكسد (٢٪) و (٤، ٠) ملتر من NADPH (1mM) و (١، ٠) ملتر من المستخلص الانزيمي الخام. تم قراءة مزيج التفاعل في مطياف ضوئي نوع Spectronic 21 UVD على طول موجي مقداره ٣٤٠ نانوميتر وسجلت القراءات كل ٣٠ ثانية، وقدرت الفعالية الانزيمية على اساس مقدار الانخفاض في الامتصاص الناتج من (١) ملتر من الانزيم خلال دقيقة واحدة تحت ظروف التفاعل ($\text{Absorbance ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$) وتمثل الفعالية النوعية Specific activity عدد وحدات الانزيم لكل ملغم بروتين في المستخلص الانزيمي. تم تقدير البروتين بطريقة Biuret (Bishop et al., 1985).

النتائج والمناقشة:

مؤشر الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم:

يلاحظ من الجدول (١) تشيع الحيوانات باشعة كاما (١٠٠) راد ادى الى خفض مؤشر الانقسام الخيطي معنويا مقارنة بالحيوانات التي لم تعرض لاية جرعة اشعاعية. حيث كان المؤشر الانقسام (٩، ٧٤)، (٤، ٦٣) لحيوانات السيطرة والحيوانات المعرضة للاشعاع على التوالي. اما عند استخدام مستخلصات الثوم الكحولي قبل الاشعاع فقد احدثت زيادة معنوية مقارنة بالحيوانات المعرضة للاشعاع حيث كانت قيمة مؤشر الانقسام الخيطي (٤، ٦٦)، (٥، ١١) على التوالي. اما عند تجريع الفئران المستخلص المائي البارد والمغلي فقد احدثت زيادة غير معنوية.

تأثير الثوم في الوقاية من اثر سعد جابر تاج الدين ، اسماعيل شبر ، عباس الربيعي

ان تأثير أشعة كاما في خفض مؤشر الانقسام الخيطي يتفق مع دراسات عديدة (Matsubara *et al.*, 1986; Bond *et al.*, 1965; Durant *et al.*, 1964) وان السبب في تأثير اشعة كاما في خفض مؤشر الانقسام يعود الى ان الاشعاع يعمل على موت الخلايا في نقي العظم او الى تاخير انقسام الخلايا في طوري G2,S للسماح لاكمال اصلاح التلف الحاصل بفعل الاشعاع (Rowley *et al.* 1977, Painter, 1980, Tolmach *et al.* 1984). وعند استخدام مستخلصات الثوم بعد التشعيع (جدول ١) فان المعاملة بالمستخلص المائي البارد والمستخلص المائي المغلي لم تحدث تغييراً معنوياً في حين احدثت المعاملة بالمستخلص الكحولي زيادة معنوية ($P < 0.05$) حيث رفعت قيمة مؤشر الانقسام من (٤,٦٦) إلى (٥,١١) اما معاملة الحيوانات بزيت الثوم بعد تعريضها لأشعة كاما فيلاحظ ان مؤشر الانقسام قد زاد معنوياً عند المقارنة مع الحيوانات المعرضة لأشعة كاما فقط. حيث كانت قيمة مؤشر الانقسام (٥,١٧) للحيوانات المجرعة بزيت الثوم بعد التشعيع و (٤,٦٦) بالنسبة للحيوانات المعاملة بالاشعاع فقط.

لقد اشارت الدراسات إلى ان مراحل تأثير المواد المثبطة للطفرات يختلف باختلاف المواد وتراكيزها ووقت اعطائها فهي اما ان تؤثر في منع المادة المطفرة من الاضرار بالمادة الوراثية (DNA) بواسطة الحماية منها او تكوين معقدات معها او متايضاتها وبالتالي طرحها خارج الجسم وهذه المرحلة تتم خارج الخلية ويطلق على المثبطات من هذا النوع (Desmutagenes). اما المرحلة الثانية داخل الخلية حيث تمنع المادة المطفرة من التفاعل مع DNA والمرحلة الثالثة داخل الخلية تعمل باتجاه الحماية على منع تقدم السرطان وتعرف المواد من هذا النوع (Bioantimutagens). ان مركبات الثوم يمكن ان تعمل في المراحل الثلاث لاحتوائها على مركبات الكبريت ومجاميع الثايول thiol (Deflora & Ramel, 1988).

مؤشر الانقسام الخيطي للخلايا الجنسية للذكور:

ان المعاملة بالمستخلص المائي البارد والمغلي قبل التشعيع احدث زيادة غير معنوية في مؤشر الانقسام الخيطي للخلايا الجنسية عند المقارنة بمؤشر الانقسام

للحيوانات المعرضة للاشعاع فقط. اما عند المعاملة بالمستخلص الكحولي فقد احدثت زيادة معنوية ($P < 0.05$) في حين ان المعاملة بمستخلصات الثوم المائي بعد التعرض لاشعة كما احدثت زيادة غير معنوية في مؤشر الانقسام للخلايا الجنسية للذكور (جدول ١). لقد ارتفع مؤشر الانقسام عند تجريع الفئران بزيت الثوم قبل التشعيع بزيادة معنوية الى (٣,٤٧) مقارنة بالمعاملة بالاشعاع فقط (١,٣٧). وكذلك ارتفع مؤشر الانقسام عند تجريع الفئران بعد الاشعاع بزيادة معنوية مقدارها (٣,٧٤) مقارنة بمؤشر الانقسام للمعاملة بالاشعاع فقط (١,٣٥).

بعض مستخلصات الثوم ادت دوراً في حماية الخلايا من خلال تقليل تأثير الاشعاع في تثبيط مؤشر الانقسام. حيث يلاحظ ان اعطاء المستخلص البارد والمستخلص الكحولي قد قلل معنوياً تأثير الاشعاع بالنسبة لخلايا نقي العظم. اما بالنسبة للخلايا الجنسية فيلاحظ ان المستخلص الكحولي وزيت الثوم قد رفع مؤشر الانقسام معنوياً بالمقارنة مع النماذج المعرضة للاشعاع فقط. ان هذه النتائج تتفق مع ما وجدته (Knasmuller *etal.*, ١٩٨٩). حين وجدوا ان مستخلص الثوم قد خفض من تأثير الاشعاع في خلايا اللبائن، ويمكن ان يعزى تأثير مستخلصات الثوم في تثبيط تأثير اشعة كما على الانقسام الخيطي الى ان مكونات الثوم لها خصائص كاسحة للعناصر النشطة (Radical quenching) ومنها الجزيئات التي تحتوي الكبريت او انه يثبط تكوين فوق اوكسيد الهيدروجين H_2O_2 الذي يعمل على احداث كسور في اشربة الـ DNA وتكوين قواعد مؤكسدة (Troll *etal.*, 1994; Knasmuller *etal.*, 1989) يظهر ان الخلايا الجنسية اكثر تأثراً بالاشعاع وان السبب يعود إلى ان الانابيب المنوية للخصى تحتوي على مدى واسع التنوع من الخلايا تختلف من حيث حساسيتها للعوامل المطفرة (Bender *etal.*, 1988; Hu & zhu, 1990).

فعالية انزيم Glutathione Reductase (GR)

يبين جدول رقم (٢) ان مقدار الفعالية الانزيمية لمعاملة السيطرة السالبة (حيوانات غير معاملة) كان (١,٥٦) وان تجريع الفئران مستخلصات الثوم (المستخلص المائي البارد والمغلي والمستخلص الكحولي) قد احدثت زيادة معنوية في

تأثير الثوم في الوقاية من اثر سعد جابر تاج الدين ، اسماعيل شبر ، عباس الربيعي

الفعالية النوعية للانزيم حيث اصبحت (٣,٠٢)، (٣,١٢)، (٣,٧٦) على التوالي. ان وجود الالين يؤدي الى تكوين الكلوتاثيون وهو من المكونات الخلوية المهمة في اليه الدفاع عن الجسم (Hayatsu *et al.*, 1988). وبصورة عامة أظهر المستخلص البارد فعالية أفضل من المستخلص المائي المغلي (جدول ١) الى أن حراره تسبب فى تلف بعض مركبات الالين الفعالة (Song & Milner, 2001).

وبين الجدول (٢) ايضاً تأثير التداخل بين مستخلصات الثوم واشعة كاما على فعالية الانزيم حيث يلاحظ ان تجريع الفئران مستخلصات الثوم المائي البارد والمغلي والكحولي قبل التعرض لاشعة كاما قد احدثت زيادة معنوية حيث اصبحت مقادير الفعالية الانزيمية (٧,٤٣)، (٦,٦٧)، (٨,١٤) على التوالي، ويظهر الجدول ان نسبة الزيادة هذه في فعالية الانزيم هي اقل معنوياً عن الزيادة الحاصلة عند تجريع الفئران مستخلصات الثوم كما يلاحظ ايضاً ان مقدار الفعالية الانزيمية قد اصبحت (٦,٦٠)، (٥,٢)، (٥,٨٨) عند تجريع الفئران بعد التعرض لاشعة كاما المستخلصات المائي والبارد والمغلي والكحولي على التوالي.

اما مايخص التداخل بين زيت الثوم واشعة كاما فيلاحظ في الجدول رقم (٢) ان استعمال زيت الثوم قبل التعرض لاشعة كاما قد احدث زيادة معنوية في فعالية الانزيم في حين لم تختلف الزيادة معنوياً عند استعمال زيت الثوم بعد التعرض لاشعة كاما.

يلاحظ ان فعالية الانزيم في نماذج السيطرة السالبة (غير المعاملة) هي اقل معنوياً عن فعالية الانزيم عند المعاملة بمستخلصات الثوم (جدول ٢) وقد يعود السبب في ذلك إلى احتواء مستخلصات الثوم على الكلوتاثيون المؤكسد (GSSG) وان زيادة المادة الأساس (Substrate) للانزيم قد زاد من فعالية الانزيم. وان استخدام الاشعاع كذلك قد زاد من فعالية الانزيم، والسبب في ذلك يعود الى تكوين الجذور الحرة او المتأيضاات الغريبة عن الجسم وان الكلوتاثيون يعمل على صيد (trap) او اخماد (quenching) جذور الكربون الحرة الناتجة بفعل الاشعاع وهذا العمل ربما يصلح الضرر الحاصل للاحماض النووية بفعل الشعاع (Ketterer 1988). حيث ان الكلوتاثيون يعمل ضمن آلية الدفاع في الخلايا ضد

تأثير الثوم في الوقاية من اثر سعد جابر تاج الدين ، اسماعيل شبر ، عباس الربيعي

الاجسام الغريبة. اما زيادة فعالية الانزيم معنوياً عند استخدام مستخلصات الثوم قبل وبعد التعرض لأشعة كاما فكانت لغرض توفير الكلوتاثيون المختزل بالمقدار الذي يسهل التخلص من الجذور الحرة والمواد الغريبة، ولقد اوضحت الدراسات ان الكلوتاثيون يعمل على تثبيط المطفرات عن طريق التفاعل الكيمياوي بواسطة مجموعة الثايول او حجز المطفرات في الخلايا المستهدفة او عن طريق تحفيز آلية ازالة السمية وفي تسهيل إصلاح أضرار الأحماض النووية (Deflora & Ramel., 1988) وتتفق هذه الدراسة مع ما توصل إليه (Singh *etal.*, 1995) حيث اثبت ان استعمال الإشعاع او مستخلص الثوم قد احدث زيادة معنوية في محتوى انزيم GST وان المعاملة بالثوم قبل التشعيع قد احدث زيادة في فعالية GST. كما لاحظ (Hu & singh 1997) ان فعالية انزيم GST قد زاد معنوياً باضافة المركبات العضوية الموجودة في الثوم. وتشير نتائج الدراسة الحالية إلى إمكانية استخدام غذاء الثوم كعامل مضاد لكبح تأثير الاشعاع على خلايا اللبائن.

جدول (١) تأثير مستخلصات الثوم في تثبيط اثر اشعة كاما على معامل الانقسام في الخلايا الجسمية والجنسية.

تمثل الارقام متوسط ثلاث قراءات

المعاملة	المعاملة قبل التشعيع		المعاملة بعد التشعيع	
	خلايا نقي العظم	الخلايا الجنسية	خلايا نقي العظم	الخلايا الجنسية
بدون معاملة (سيطرة سالبة)	9.74±0.059	7.5±0.153	9.79±0.067	7.59±0.116
تشعيع (100 راد)	4.63±0.219	1.37±0.291	4.66±0.219	1.35±0.87
مستخلص الثوم المائي البارد	*5.1±0.16	1.63±0.234	4.93±0.033	1.57±0.234
+تشعيع	4.89±0.2	1.4±0.116	4.70±0.2	1.67±0.177
مستخلص الثوم المائي المغلي	*5.27±0.146	2.8±0.231	*5.11±0.1	2.27±0.177
+ تشعيع	4.97±0.067	*3.47±0.372	*5.17±0.241	*3.74±0.273
مستخلص الثوم للكحولي + تشعيع				
زيت الثوم الالين +تشعيع				

* معنوي عند احتمالية 0.05

جدول (٢) تأثير المعاملة بسمتخلصات الثوم واشعة كاما على فعالية انزيم Glutathione Reductase في كبد الفار الابيض Balb/c . وتمثل الارقام متوسط ثلاث قراءات

المعاملة	الخطا القياسي الفعالية الانزيمية U mg ⁻¹ protein ± SE
بدون معاملة (سيطرة سالبة)	1.56 ± 0.17
مستخلص الثوم البارد (100ملغم/كغم)	*3.02 ± 0.023
مستخلص الثوم المغلي (100ملغم/كغم)	3.12 ± 0.32
مستخلص الثوم الكحولي (100ملغم/كغم)	*3.76 ± 0.119
اشعة كاما (100 راد)	*3.6 ± 0.194
مستخلص الثوم البارد + اشعة كاما	* 7.43 ± 0.798
مستخلص الثوم المغلي + اشعة كاما	*6.67 ± 0.408
مستخلص الثوم الكحولي + اشعة كاما	*8.14 ± 0.39
اشعة كاما + المستخلص البارد	*6.66 ± 0.316
اشعة كاما + المستخلص المغلي	*5.2 ± 0.312
اشعة كاما + للمستخلص الكحولي	* 5.88 ± 0.101
زيت الثوم (الالين)+ اشعة كاما	*5.61 ± 0.116
اشعة كاما +زيت الثوم (الالين)	4.24 ± 0.026

(*) معنوي عند احتمالية 0.05

المراجع

- Allen, J., Shuler, C. and latt, S.A. (1977) A simplified technique for in vivo analysis of SCE using 5- Brdu tablets. Cytogenet. Cell Genet. 18:231-239.
- Augenstein, L.G., Mason, R. and Zehe, M. (1969). Advances in Radiation Biology. 3, Academic Press, NewYork and London.
- Bender, M.A.; Awa, A., Evans, H and Bacholz (1988). Current status of cytogenetic procedures to detect and quantify previous to radiation. Mut. Res. 196:103 159.
- Bishop, M.L., Duben vontafen, J.E. and Fody, E.P.(1985). Clinical Chemistry: Principles, Procedures, Correlations. USA. P:181-182
- Block, E.(1983) . The chemistry of garlic and onion. Sci Amer 252:114-119.

- Bond, V.P., Fliendner, T.M. and Archambeau, J.O. (1965). Mammalian Radiation Lethality . Academic Press, New York and London.
- Deflora, S. and Ramel, G.(1988) Mechanism of inhibitor of mutagenesis and carcinogenesis classification and overvieiw. Mut Res 202:285-306.
- Durant, M., Gialanella. G., Grossi, G.F.; Nappo M.; Puglises, M., Bettegae, D.; Calzolari, P; Chiorda, G.N., Ottolenghi, A and Tallone Lambardi, L. (1994). Radiation induced chromosomal aberration in mouse 10T 1/2 cells: Dependence on the cell cycle stage at the time of irradiation. Int J. Rad. Biol B5 (4) :437-447.
- Evans, E.P., Breckon G. and Ford, C.E (1964) An airdring method for meiotic preparations from mammalian tests. Cytogenetics. 3 : 284- 294.
- Harbone, J.B., Mabary, T.J. and Mabary. H. (1975). Physiology and Function of Flavonoids. Academic press, New York 340 pp.
- Hayatsu, H., Arimoto, S. and Negishi, T.(1988). Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis.. Mut. Res. 202:429-446.
- Hu, X. and Singh., S.V. (1997)., Glutathiones transferase of female A/J mouse lung and their induction by anticarcinogenic organosulfides from garlic. Arch. Biochem. Biophys. 340(2):279-286.
- Hu, Q. and Zhu, S.(1990). Induction of chromosomal aberration in male mouse germ cells by uranyl fluoride containing enriched uranium.Mut. Res. 244:209-214.
- Ketterer, B. (1988). Protective role of glutathione and glutathione transferases in mutagenesis and carcinogenesis. Mut Res 202:343-361.
- Knasmuller, S., deMartin, R.; Domjan, G. and Szakmary, A. (1989). Studies on the antimutagenic activities of garlic extract. Environ. Mol. Mutagen. 13:357-365.
- Lau, B.H. S., Tadi, P.P and Tosk, J.M. (1990). Allium sativum (garlic) and cancer prevention. Nutr.Res. 10:937-948.
- Matsubara, S.; Kuwabara, Y., Horiuchi; J., Suzuki, S., Hoshing, M. and Kato, T. (1986). A comperative study of dose distribution of a high energy electron beam and chromosome aberration frequencies. Brit. J. Radiol. 59:1001-1005.
- Painter, R.B. (1980). Effects of caffeine on DNA synthesis in irradiated-mammalian cells. J. Mol. Biol 143:289-301.
- Racker, E.(1995) . Methods in Enzymology(II):722-725.
- Rowley, R., Zorch, M. and Leeper, D.B .(1984) Effect of caffeine on radiation induced mitotic dely: Delayed expression of G2 arrest. Rad Res. 97:179-185.

- Sato, T., Ones, Y., Nagase, H. and Keto, H. (1990). Mechanisms of antimutagenicity of aquatic plant extracts against benzo (a) Pyrene in the Sallmonella assay. Mut Res. 241:283-290.
- Singh, S.P., Abraham, S.K. and Kesavan, P.C. (1995). In vivo radioprotection with garlic extract. Mut Res. 345(3-4):147-153.
- Song, K. and Milner, J. A. (2001). The influence of heating on the anticancer properties of garlic. J. Nutr. 131:1054s-1057s.
- Stich, H. and San, C. (1981). Topics in Environmental Physiology and Medicine in (Short- Term Tests for Chemical Carcinogens). Springer-Verlag. NewYork.
- Troll, W., Lim, J.S., and Frenkel, K.(1994). Prevention of cancer by agents that suppress production of oxidant. ACS Symposium Series (USA) No. 547: 116-121.
- Weisberger, A.S. and Penisky, J. (1957). Tumer-inhibiting effects derived from an active principle of garlic (*Allium sativum*). Science. 126:1112-1119.